第 2 部 CTD の概要

AZD1222

版番号：[redacted]

2.6.6 毒性試験の概要文
AZD1222

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

標題ページ 1
目次 2
略語及び専門用語一覧表 4
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 7
2.6.6.3 反復投与毒性試験 7
2.6.6.3.1 AZD1222 のマウス 6 週間反復筋肉内間欠投与毒性試験（含 4 週間回復性、試験 513351） 7
2.6.6.3.2 ChAdOx1 MERS ワクチンのマウスを用いた反復投与毒性試験（試験 QS18DL） 8
2.6.6.3.3 ChAdOx1 NP+M1 及び MVA NP+M1 のマウスを用いた反復投与毒性試験（試験 XMM0003） 11
2.6.6.3.4 ChAd63 MSP-1 及び MVA MSP-1、又は ChAd63 ME-TRAP と MVA ME-TRAP との併用でのマウスを用いた反復投与毒性試験（試験 UNO0013） 12
2.6.6.4 トキシコキネティクス 13
2.6.6.5 遺伝毒性試験 13
2.6.6.6 がん原性試験 13
2.6.6.7 生殖発生毒性試験 13
2.6.6.7.1 雌 CD-1 マウスを用いた AZD1222 の筋肉内投与による生殖発生毒性試験（予備試験、試験 490838） 13
2.6.6.7.2 雌 CD-1 マウスを用いた AZD1222 の筋肉内投与による主要生殖発生毒性試験（試験 490843） 15
2.6.6.8 局所刺激性試験 18
2.6.6.9 その他の毒性試験 18
2.6.6.10 考察及び結論 18
2.6.6.11 参考文献 19

表目次

表 1 AZD1222 の実施済み非臨床毒性試験一覧 6
表 2 類似非増殖型 ChAd ベクターワクチン（ChAdOx1 及び ChAd63）の毒性試験一覧 6
表 3 試験 513351－投与群 7
表 4 試験 QS18DL－投与群 9

表 5 マウスの右腰リンパ節の所見の要約 10
表 6 試験 XMM0003－投与群 11
表 7 試験 UNO0013－投与群 12
表 8 試験 490838－投与群 14
表 9 抗 S-糖タンパク質抗体反応の抗体価レベル 15
表 10 試験 490843－投与群 16
表 11 抗 S-糖タンパク質抗体反応の抗体価レベル 17

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
AU	Arbitrary unit
BLQ	Below the limit of quantification：定量限界未満
ChAd63	Chimpanzee Adenovirus 63：チンパンジーアデノウイルス 63
ChAdOx1	Chimpanzee Adenovirus Oxford 1：チンパンジーアデノウイルスオクスフォード 1
CoV	Coronavirus：コロナウイルス
COVID-19	Corona Virus Disease 2019：コロナウイルス疾患-19
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid：エチレンジアミン四酢酸
EFD	Embryo-Fetal Development：胚胎児発生
GD	Gestation Day：妊娠後日数、妊娠日=GD0
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
ICMRA	International Coalition of Medicines Regulatory Authorities：薬事規制当局国際連携組織
IM	Intramuscular：筋肉内投与
LD	Lactation Day：授乳開始後日数、新生児誕生日=LD0
M1	Influenza A matrix protein 1
ME-TRAP	Multiple epitopes and thrombospondin related adhesion protein
MERS	Middle East Respiratory Syndrome：中東呼吸器症候群
MSP	Merozoite surface protein
MVA	Modified vaccinia virus Ankara
NHP	Non-Human Primate：ヒト以外の霊長類
NP	Influenza A nucleoprotein
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development：経済開発協力機構
PBS	phosphate-buffered saline：リン酸緩衝液
pfu	plaque-forming unit：ウイルス力価
PND	Post-natal Day：出生後日齢
SARS	Severe Acute Respiratory Syndrome：重症急性呼吸器症候群
vp	Viral Particle：ウイルス粒子
WHO	World Health Organisation：世界保健機関

2.6.6.1 まとめ

AZD1222（別名 ChAdOx1-nCoV-19）は SARS CoV-2 スパイク（S）表面タンパク質をコードする遺伝子組換えサルアデノウイルス Ox1 ベクターであり、SARS-CoV-2 により誘発される COVID-19 の予防を目的として開発中である。

AZD1222 に使用されている ChAdOx1 プラットフォーム技術の特徴は十分明らかにされており、完全長 S タンパク質を発現した ChAdOx1 MERS-CoV ワクチンの毒性データ（2.6.6.3.2 項）を用いて、AZD1222 をヒトに初めて投与する臨床試験をサポートした（ICMRA：薬事規制当局国際連携組織－COVID-19 ワクチン開発に関する世界規制当局ワークショップ、2020 年 3 月 18 日［ICMRA 2020］）。また、類似した非増殖型 ChAd ベクターワクチン（ChAdOx1 NP+M1 及び ChAd63 MSP-1）の毒性試験についても以下に述べる（それぞれ 2.6.6.3.3 項及び 2.6.6.3.4 項、表 1）。

AZD1222 を用いた毒性試験を表 1 に示す。CD-1 マウスを用いた反復投与毒性試験（43 日間にわたって 3 週間に 1 回筋肉内投与）では、AZD122 の忍容性が高く、雄では一過性の体温上昇、雌雄共に単球減少（予想される AZD1222 の薬理作用と一致）、急性期反応と一致するグロブリンの増加とアルブミン及びアルブミン/グロブリン比の減少がみられた。AZD1222 を投与したすべての動物において、S-糖タンパク質に対する抗体価が上昇し、抗体価上昇はすべての動物の投与期間中及び回復期間を通して維持された。AZD1222 投与により、脾臓重量の増加がみられたが、肉眼的及び病理組織学的所見は認められなかった。AZD1222 投与動物の投与部位の皮下組織と骨格筋、及び隣接する坐骨神経で、有害でない単核細胞及び/又は混合細胞性浸潤による炎症反応が認められた。この所見は、ワクチンの筋肉内投与後に予想される所見と一致したものであった。また、この投与部位及び坐骨神経の所見は回復期間終了時には認められず、AZD1222 投与に関連した炎症は完全に回復性のあるものであることが示唆された。AZD1222 投与に起因する有害所見は認められなかった。

マウスを用いた予備的及び主要な生殖発生毒性試験では、投与部位への影響を含めて、母動物への影響、雌の生殖能、胎児あるいは出生児の生存に AZD1222 投与による影響は認められず、出生児、F1 世代及び母動物に対する肉眼所見は認められなかった。また、AZD1222 投与による胎児の外表、内臓又は骨格に異常は認められなかった。

マウスを用いた ChAdOx1MERS ワクチンの毒性試験における毒性所見の範囲及び重症度は、ChAdOx1 MERS ワクチンのような抗原性物質の投与後に予想される変化と概ね一致しており、有害な所見ではないと考えられた。ChAdOx1 NP+M1 ワクチン及び ChAd63 MSP-1 ワクチンの毒性試験のいずれにおいても、認められた所見は ChAdOx1 MERS ワクチンの毒性試験でみられたものと概ね一致していた。

マウスは適切な免疫応答が得られるため、毒性試験で用いる動物種として選択した。Balb/c 系を使用した理由は、この系統がワクチン開発に適切な系統だからである。毒性試験に使用する動物種を選択する時点においては、マウスとアカゲザルの ChAdOx1 免疫原性データのみが利用可能であった。その後、ブタとフェレットの免疫原性データが利用可能となった。進行中のパンデミックの緊急性、NHP（ヒト以外の霊長類）を用いた毒性試験ではより長期の準備期間及び長期にわたる生殖発生毒性試験期間が必要になることから、毒性試験を迅速に進める必要性を考慮し種として NHP ではなくマウスを選択し、Balb/c 系よりもより体格の大きい CD-1 マウスを毒性評価動物種として選択した。

すべての重要な非臨床安全性試験は、OECD（経済協力開発機構）加盟国において、OECD 試験ガイドライン及び医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準（GLP）を遵守し、関連ある医薬品規制調和国際会議ガイドラインに従って実施した。

表 1 AZD1222 の実施済み非臨床毒性試験一覧

試験（試験番号）	動物種・系統	投与用量及び期間	実施施設	GLP
反復投与毒性試験				
AZD1222 (ChAdOx1-nCovd-19): A 6 Week Intermittent Dosing Intramuscular Vaccine Toxicity Study in the Mouse with a 4 Week Recovery (513351)	CD-1 マウス	Days 1, 22 and 43, IM 3.7×10^{10} vp AZD1222	[redacted], UK	GLP 適用
生殖発生毒性試験				
ChAdOx1-nCovd19: A Preliminary Intramuscular Injection Vaccine Development and Reproductive Study in Female CD-1 Mice (490838)	CD-1 マウス	Day 1 (13 days prior to pairing for mating) and GD 6 to EFD phase animals and on GD 6 and GD 15 to littering phase animals, IM 2.59×10^{10} vp AZD1222	[redacted], UK	GLP 適用
AZD1222 (ChAdOx1-nCovd19): An Intramuscular Injection Vaccine Development and Reproductive Study in Female CD-1 Mice (490843)	CD-1 マウス	Day 1 (13 days prior to pairing for mating) and GD 6 to EFD phase animals and on GD 6 and GD 15 to littering phase animals, IM 3.71×10^{10} vp AZD1222	[redacted], UK	GLP 適用

ChAdOx1-nCovd19 = AZD1222、 EFD = 胚胎児発生、 GD = 妊娠後日数、IM = 筋肉内投与、
vp = Virus Particle

表 2 類似非増殖型 ChAd ベクターワクチン（ChAdOx1 及び ChAd63）の毒性試験一覧

試験（試験番号）	動物種・系統	投与用量及び期間	実施場所	GLP
Mouse Toxicity ChAdOx1 Chik Vaccine-or ChAdOx1 MERS (QS18DL)	Balb/C マウス	Day 1 and 15, IM 1×10^{10} vp	[redacted][a], UK	GLP 適用
ChAdOx1 NP+M1 and MVA NP+M1: Toxicity Study by Intramuscular Administration to Mice (XMM0003)	Balb/C マウス	Day 1, IM ChAdOx1 NP+M1 1×10^{10} vp and Day 15, IM MVA NP+M1 1.5×10^{7} pfu	[redacted][a], UK	GLP 適用

試験（試験番号）	動物種・系統	投与用量及び期間	実施場所	GLP
Mouse Toxicity AdCh63 MSP-1 and MVA MSP-1 or a Combination of AdCh63 ME-TRAP and MVA ME-TRAP (UNO0013)	Balb/C マウス	Day 1, IM ChAd63ME-TRAP 1×10^{10} vp Day 15, IM ChAd63ME-TRAP/ MVA ME TRAP 0.78×10^{10} vp / 6.85×10^{7} pfu	[redacted],[a] UK	GLP 適用

ChAdOx1-nCovd19 = AZD1222、AdCh63 = ChAd63、 IM = 筋肉内投与、vp = Virus Particle、pfu = plaque-forming unit

[a] [redacted]

2.6.6.2 単回投与毒性試験

ワクチンの非臨床評価に関する WHO ガイドライン（WHO 2005）によれば、試験動物に投与されるワクチンの投与回数は、ヒトで提案された投与回数以上でなければならないため、AZD1222 の単回投与毒性試験は実施していない。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 AZD1222 のマウス 6 週間反復筋肉内間欠投与毒性試験（含 4 週間回復性、試験 513351）

毒性試験に使用する動物種を選択する時点においては、マウスとアカゲザルの ChAdOx1 免疫原性データのみが利用可能であった。その後、ブタとフェレットの免疫原性データが利用可能となった。進行中のパンデミックの緊急性、NHP を用いた毒性試験ではより長期の準備期間及び長期にわたる生殖毒性試験期間が必要になることから、毒性試験を迅速に進める必要性を考慮し種として NHP ではなくマウスを選択し、Balb/c 系マウスよりも体格の大きい CD-1 マウスを毒性評価動物種として選択した。

本試験の目的は、マウス（主試験、回復性共にそれぞれ雌雄各 20 匹/群）に AZD1222（3.7×10^{10} の総ウイルス粒子用量）を間欠的（1、22 及び 43 日目）に筋肉内投与したときの毒性を評価し、また 28 日間の回復期間を設け毒性所見の回復性を検討することであった。さらに、免疫原性も評価した。剖検は、6 週間の投与期間終了時（45 日目）、及び 28 日間の回復期間終了時（74 日目）に実施した。

表 3 試験 513351－投与群

群	投与群	投与容量[a] (µL)	総ウイルス粒子（vp）/回	主試験		回復性		免疫原性	
				雄	雌	雄	雌	雄	雌
1	溶媒対照	70	0	20	20	20	20	-	-
2	AZD1222	70	3.7×10^{10}	20	20	20	20	5	5

溶媒 = 10 mM ヒスチジン、7.5% [v/w] スクロース、35 mM 塩化ナトリウム、1 mM 塩化マグネシウム、0.1% [v/w] ポリソルベート-80, 0.1 mM EDTA 及び 0.5% [v/w] エタノール、pH 6.6

[a] 左右後肢の大腿部筋肉内にそれぞれ 35 µL の容量で投与した（総投与容量は 70 µL [0.07 mL]）

本試験における毒性評価項目は、一般状態、体温、体重、体重増加量、摂餌量、皮膚スコアリング（局所刺激性）、Irwin スクリーン観察、臨床病理項目（血液学的検査及び血液生化学的検査）、免疫原性、剖検、器官重量、及び病理組織学的検査であった。

溶媒対照群及び投与前のデータと比較して、AZD1222 を投与した雄において、軽度な体温上昇が特に 22 日目の投与 4 時間後に観察された（溶媒対照群：36.2-38.7 ℃、AZD1222 投与群：36.2-39.5 ℃）が、投与 24 時間後までには対照群と同様までに回復した。一方、Irwin スクリーン観察では、AZD1222 に関連した雄の体温の変化は認められなかった。

AZD1222 投与動物では、45 日目に単球がわずかに減少し、免疫後の予想される薬理作用と一致していた。さらに、グロブリン値はやや高く、アルブミン及びアルブミン/グロブリン比は低く（軽微～軽度）、これは急性期反応と一致していた。回復期間後の AZD1222 投与雌では、グロブリンは軽度に高く、アルブミン/グロブリン比は軽度に低かったが、他の変化は回復していた。

免疫化前である投与前の動物から採取されたすべての血清サンプルでは、抗体価はアッセイの定量限界（BLQ; 0.250 AU/mL）を下回り、血清反応（抗体反応）陰性であった。1 日目に AZD1222 を単回投与したすべての動物において S-糖タンパク質に対する抗体反応が認められ、22 日目に AZD1222 を 2 回目投与したほとんどの動物では、抗体反応のレベルが顕著に増加した。AZD1222 の 3 回目の投与したすべての動物で 74 日目（回復期間終了時）に、抗体反応のさらなる増加または抗体反応の維持が認められた。

病理組織学的検査において、単核細胞及び/又は混合細胞性浸潤による炎症反応が、溶媒対照及び AZD1222 投与部位の皮下組織及びその直下の骨格筋で観察された。この所見は、AZD1222 投与動物で発生率が高かった。一部の動物では、炎症細胞が投与部位の骨格筋下の筋膜及び結合組織へ拡がっており、坐骨神経を取り囲むように拡がっていた。炎症細胞は坐骨神経の神経内膜には及んでおらず、下層の軸索に所見は認められず、組織学的に正常なものであった。腰髄切片に含まれる神経根に炎症細胞は観察されず、坐骨神経サンプルに認められた神経周囲/神経周膜の炎症細胞は、隣接する注射部位からの炎症の拡大に起因することが確認された。

結論として、CD-1 マウスへ AZD1222 を 43 日間にわたって 3 回（3 週間に 1 回）筋肉内投与（総ウイルス粒子用量 3.7×10^{10}）した結果、忍容性は良好であり、雄の体温が一過性に高くなり、雌雄動物において単球の減少（AZD1222 の予想される薬理作用と一致）、及びグロブリンの増加、急性期反応と一致するアルブミン及びアルブミン/グロブリン比の減少がみられた。

AZD1222 を投与されたすべての動物において、S-糖タンパク質に対する抗体価が上昇し、すべての動物の投与及び回復期間を通してその免疫原性は維持された。

AZD1222 投与動物では、脾臓重量増加がみられたが、肉眼的又は病理組織学的所見は認められなかった。AZD1222 投与動物の投与部位の皮下組織と骨格筋、及び隣接する坐骨神経で、有害ではない単核細胞及び/又は混合細胞性浸潤による炎症反応が認められたが、一般的にワクチンの筋肉内投与後に予想される所見と一致していた。また、この投与部位及び坐骨神経の所見は回復期間終了時には認められず、AZD1222 投与に関連した炎症は完全に回復性のあるものであることが示唆された。AZD1222 投与に起因する有害所見は認められなかった。

2.6.6.3.2 ChAdOx1 MERS ワクチンのマウスを用いた反復投与毒性試験（試験 QS18DL）

本試験の目的は、マウスに ChAdOx1 MERS ワクチンを 14 日間隔で投与した後に 13 日間の観察期間をおいて、ChAdOx1 MERS ワクチンの毒性を評価することであった。適切な免疫応答が得られるマウスモデルを選択した。Balb/c 系を使用した理由は、この系統がワクチン開発構築に適切な系統だからである。

臨床投与条件をシミュレートするため、マウスに ChAdOx1 MERS ワクチン又は溶媒対照群であるリン酸緩衝液（PBS）をそれぞれ筋肉内投与（1 及び 15 日目）する 2 群を設けた（表 4）。

表 4 試験 QS18DL－投与群

群	投与群	動物数（匹）	1 日目 [a]	15 日目 [a]
1	溶媒対照	雄 6、 雌 6	0	0
2	ChAdOx1 MERS	雄 10、雌 10	1×10^{10} vp	1×10^{10} vp

[a] 投与容量は 35 µL、右後肢大腿部に筋肉内投与、溶媒 = PBS（リン酸緩衝液）、vp = Virus Particle

用量設定の根拠は、他のチンパンジーアデノウイルスワクチン（ChAd63 ME-TRAP、ChAdOx1 MP+N1）をマウスに投与して明らかな毒性が認められなかった用量と同程度の用量であること、及び ChAdOx1 MERS ワクチンの予定臨床用量は投与容量の制限により 5×10^{10} vp であることに基づくものであった。

試験期間は 28 日間であり、評価項目は一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、剖検、及び病理組織学的検査であった。

本試験において死亡は認められなかった。ChAdOx1 MERS ワクチン投与と明らかに関連があると判断される一般状態の変化は認められず、投与部位でも投与に起因する明らかな影響は認められなかった。

雄では、概して ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の平均体重増加量が溶媒対照群と比較して低値（対照群の 0.74 倍）であったが、これは主として 15～18 日目（2 回目接種後）の体重増加量が溶媒対照群と比較して低値であったことに起因する。

ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雌では、2 回目（15 日目）の投与後に平均体重の減少が認められ、個体別データを精査したところ、10 匹中 7 匹で体重が減少していた。平均体重増加量も、1～4 日目に対照群と比較してわずかに低値であったが、4～8 日目には溶媒対照群よりも高値になった。その結果、全体（1～28 日目）での体重増加量は ChAdOx1 MERS ワクチン投与群で溶媒対照群と比較して低値（対照群の 0.80 倍）となった。

ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雄では 2 回目投与後（3 週目）の平均摂餌量が溶媒対照群と比較してわずかに低かった。ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雌の平均摂餌量は溶媒対照群と同程度であった。

28 日目に実施した血液学的検査で、ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雌雄では血中総白血球数（WBC）の平均値がわずかに高かったが（雄では溶媒対照群の 1.4 倍、雌では溶媒対照群の 1.3 倍）、これは主としてリンパ球数、好酸球数、及び単核球数の平均値が雌雄共にわずかではあるが統計学的に有意に高かったこと（溶媒対照群の 1.2～1.6 倍）、また好中球数及び非染色性大型血球数の平均値が雌に限ってわずかではあるが統計学的に有意に高かったこと（溶媒対照群の 1.3～1.5 倍）によるものであった。血小板数の平均値は雌雄共に ChAdOx1 MERS ワクチン投与群でわずかに高かったが（溶媒対照群の 1.1 倍）、個体別データを検討したところ、ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雌では全例が溶媒対照群の値の範囲内にあった。その他の検査項目では、一部に統計学的有意差がみられたものもあったが（赤血球数のわずかな高値及び赤血球指数の軽微な変化等）、いずれもこの週齢及び系統のマウスで予想される変動の範囲内であった。

血液生化学的検査において、ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雌のアルブミン濃度の平均値は溶媒対照群と比較して低く（溶媒対照群の 0.94 倍）、統計学的有意差が認められた。ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雌雄のグルコース濃度は溶媒対照群と比較してわずかに高かった（雄は溶媒対照群の 1.3 倍、雌は溶媒対照群の 1.2 倍）。ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雌雄のトリ

グリセリド濃度の平均値は溶媒対照群と比較して低かった（雄は溶媒対照群の 0.56 倍、雌は溶媒対照群の 0.64 倍）。ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雌雄のカリウム濃度の平均値は溶媒対照群と比較して高く（溶媒対照群の 1.2 倍）、ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雌のリン濃度の平均値は溶媒対照群と比較して高かった（溶媒対照群の 1.2 倍）。個体別データを精査したところ、雄 4 匹、雌では最大 5 匹で溶媒対照群の値の範囲を上回っていた。その他にも溶媒対照群と ChAdOx1 MERS ワクチン投与群で平均値に統計学的有意差がみられた項目もあったが、その差は小さく、また個体別データの範囲は両群でかなり重なっていた。

28 日目に安楽死させた動物の器官重量を測定したところ、体重補正した脾臓重量の平均値は ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雌で溶媒対照群と比較してわずかに高く（溶媒対照群の 1.1 倍）、体重補正した肝臓重量の平均値は ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雌雄で溶媒対照群と比較してわずかに低かった（雄では溶媒対照群の 0.92 倍、雌では溶媒対照群の 0.90 倍）。

ChAdOx1 MERS ワクチン投与（1 日目及び 15 日目）後に 13 日間観察してから実施した剖検で、右腰リンパ節に以下の変化が認められた。35 µL の ChAdOx1 MERS ワクチンを投与した雄 1 匹及び雌の大多数で腫大が認められた（表 5）。その他の所見の発現頻度及び分布は、いずれも投与との関連性はないと判断された。

表 5　　マウスの右腰リンパ節の所見の要約

群/性	**1（溶媒対照）群/雄**	**2 群/雄**	**1（溶媒対照）群/雌**	**2 群/雌**
投与容量（µL）	**35**	**35**	**35**	**35**
検査動物数	**6**	**10**	**6**	**10**
腫大の認められた動物数	0	1	0	7

マウスは、ChAdOx1 MERS ワクチンを 2 回投与（1 及び 15 日目）し、13 日間の観察期間の後（28 日目）に安楽死させた。

病理組織学的検査で、ChAdOx1 MERS ワクチン投与に関連する変化が、右腰リンパ節、脾臓、及び筋肉内投与部位に認められた。

ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の動物全例で、右腰リンパ節に胚中心形成の増加（軽微～中等度）が認められた。一部の動物ではこれに伴って傍皮質の細胞充実度が増し、ChAdOx1 MERS ワクチン投与動物ではその発現頻度がより高かった。特に雌では、それに伴って剖検でもリンパ節の腫大が認められた。

脾臓における胚中心形成の増加が、ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雄 1 匹及び雌 3 匹に認められた。ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の雌では、これに伴って体重補正した脾臓重量の平均値がわずかに増加したが、統計学的有意差は認められなかった。

リンパ球／単核球炎症細胞の浸潤（軽微）が、ChAdOx1 MERS ワクチン投与群の一部の動物で筋肉内投与部位の筋肉及び／又は間質組織に認められた。溶媒対照群では、このような変化は認められなかった。

筋肉内投与部位の変化（炎症細胞浸潤）は、ChAdOx1 MERS ワクチンのような外来抗原物質の投与後に予想されるものである。同様に、この部位に抗原物質を注射すると局所リンパ節（本試験の場合は右後肢が投与部位であるため右腰リンパ節）で、また場合によっては脾臓でも、免疫

応答が刺激されることが予想される。それを裏付けるのが、右腰リンパ節及び脾臓での胚中心形成の増加並びに右腰リンパ節の傍皮質の細胞充実度増加であった。

結論として、ChAdOx1 MERS ワクチン投与に関連する変化が、右腰リンパ節、脾臓、及び筋肉内投与部位に認められた。変化の範囲及びその程度は、ChAdOx1 MERS ワクチンのような外来抗原物質の投与により一般的に認められる変化であり、毒性変化ではないと考えられた。ChAdOx1 MERS ワクチン投与による忍容性は良好で、関連する毒性変化は認められなかった。

2.6.6.3.3 ChAdOx1 NP+M1 及び MVA NP+M1 のマウスを用いた反復投与毒性試験（試験 XMM0003）

本試験の目的は、インフルエンザワクチン ChAdOx1 NP+M1 及びそれに続いてインフルエンザワクチン MVA NP+M1 を Balb/c 系マウスに筋肉内投与したときの毒性を検討することであった。2 種類のワクチンを 14 日間間隔で接種した後、13 日間の観察期間をおいた。試験デザイン及び投与法を表 6 に示す。本試験において、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、剖検、及び病理組織学的検査を実施した。

表 6　　試験 XMM0003－投与群

群	投与	動物数（匹）	1 日目	15 日目
1	溶媒対照	雄 5、雌 5	35 µL 右後肢	35 µL 右後肢
2	ChAdOx1 NP+M1	雄 10、雌 10	1×10^{10} vp 80 µL 右後肢	-
	MVA NP+M1		-	1.5×10^{7} pfu 120 µL 右後肢

溶媒 = PBS（リン酸緩衝液）、vp = Virus Particle、pfu = plaque-forming unit

死亡及び投与による毒性変化は認められなかった。ワクチン投与に起因すると考えられる変化として、投与部位及び流入領域リンパ節の炎症反応及び免疫応答並びに白血球数及び総タンパク濃度のわずかな増加がみられた以外は、投与の影響は認められなかった。筋肉内投与部位の炎症反応が、ワクチン投与群の雌雄で認められた。剖検では右膝窩リンパ節及び／又は右腰リンパ節の腫大がワクチン投与接群の雌全例及び雄 3 匹でみられ、それに伴う病理組織学的所見として、これらのリンパ節の胚中心形成増加が雌で観察された。わずかな血中白血球数増加及びわずかな平均血漿総タンパク濃度増加が認められた。ワクチン投与群の雌雄でみられたわずかな血漿中電解質濃度の変化に関連する明らかな病理組織学的変化は認められなかった。

結論として、ChAdOx1 NP+M1 ワクチン及びそれに続く MVA NP+M1 ワクチンの投与による忍容性は良好であり、関連する毒性変化は認められなかった。

2.6.6.3.4 ChAd63 MSP-1 及び MVA MSP-1、又は ChAd63 ME-TRAP と MVA ME-TRAP との併用でのマウスを用いた反復投与毒性試験（試験 UNO0013）

本試験の目的は、ChAd63 MSP-1 ワクチン投与の 14 日後に MVA MSP-1 ワクチンを投与、又は ChAd63 ME-TRAP ワクチンと MVA ME-TRAP ワクチンとの併用投与で、Balb/c 系マウスに 14 日間間隔で 2 回筋肉内投与した後に 13 日間の観察期間をおいて、毒性を検討することであった。試験デザイン及び投与法を表 7 に示す。本試験において、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、剖検、及び病理組織学的検査を実施した。

表 7　　試験 UNO0013－投与群

群	動物（匹）	投与	1 日目	15 日目
1	雄 5、雌 5	溶媒対照	-	-
2	雄 10、雌 10	AdCh63 MSP-1 MVA MSP-1	1.11×10^{10} vp -	- 10.37×10^{7} pfu
3	雄 10、雌 10	AdCh63 ME-TRAP/MVA ME-TRAP	0.78×10^{10} vp/6.85×10^{7}pfu	0.78×10^{10} vp/6.85×10^{7}pfu

溶媒 = PBS（リン酸緩衝液）、vp = Virus Particle、pfu = plaque-forming unit

MSP-1 ワクチン又は ME-TRAP ワクチン投与動物では、死亡及び投与に起因する毒性変化は認められなかった。投与部位、流入領域リンパ節、及び脾臓でのワクチン投与に対する炎症反応及び免疫応答に起因すると考えられる変化、血漿グロブリン濃度のわずかな増加並びにそれに関連する総タンパク濃度及び A/G 比の変化を除いて、投与による影響は認められなかった。

ChAd63 MSP-1 ワクチン及びそれに続いて MVA MSP-1 ワクチンの投与を受けた動物

筋肉内投与部位の発赤が、ChAd63 MSP-1 ワクチン投与翌日に 1 回認められた。剖検時に筋肉内投与部位の蒼白領域が 19 匹の動物で観察され、それに伴う病理組織学的所見として、筋線維変性、筋線維炎症、皮膚炎症、及び筋線維鉱質沈着の発現頻度増加が認められた。細胞充実度増加が全例で膝窩リンパ節にみられ、12 匹で腰リンパ節に認められた。脾臓の胚中心形成増加がワクチン接種群の 5 匹でみられ、それに関連して脾臓重量増加が認められた。α2、β、及び γ グロブリン濃度平均値のわずかな増加並びにそれに関連するアルブミン/グロブリン比の低下及び総タンパク濃度平均値の増加が認められた。

ChAd63 ME-TRAP ワクチンと MVA ME-TRAP ワクチンとの併用投与を受けた動物

剖検で筋肉内投与部位の蒼白領域が 14 匹にみられ、それに伴う病理組織学的所見として、筋線維変性、筋線維炎症、皮膚炎症、及び筋線維鉱質沈着の発現頻度増加が認められた。細胞充実度増加が 15 匹で膝窩リンパ節にみられ、雌 1 匹で腰リンパ節に認められた。脾臓の胚中心形成増加がワクチン接種群の 9 匹でみられ、それに関連して脾臓重量増加が認められた。γグロブリン濃度平均値のわずかな増加がみられ、それに関連してアルブミン/グロブリン比の低下及び総タンパク濃度平均値の増加が認められた。

結論として、MSP-1 ワクチン又は ME-TRAP ワクチンのいずれを投与した場合も、関連する全身性の毒性変化は認められなかった。流入領域リンパ節の細胞充実度増加、脾臓の胚中心形成増加、血漿グロブリン濃度増加、及び投与部位の炎症性変化の所見は、ワクチン投与に対して予測される反応に概ね一致すると考えられる。

2.6.6.4 トキシコキネティクス

AZD1222 のトキシコキネティクス試験は実施されていない。ワクチンの非臨床評価に関する WHO ガイドライン（WHO 2005）によると、薬物動態試験（ワクチン成分の血清中又は組織内濃度測定等）は通常必要とされていない。

2.6.6.5 遺伝毒性試験

AZD1222 の遺伝毒性試験は実施されていない。ワクチンの非臨床評価に関する WHO ガイドライン（WHO 2005）によると、最終ワクチン製剤についての遺伝毒性試験は通常必要とされていない。

2.6.6.6 がん原性試験

AZD1222 のがん原性試験は実施されていない。ワクチンの非臨床評価に関する WHO ガイドライン（WHO 2005）によると、ワクチン抗原についてがん原性試験は必要とされていない。AZD1222 は非増殖型非組込み型アデノウイルスベクターであるため、がん原性のリスクはないと考えられる。これまでのところ、アデノウイルスベクターを介した遺伝子導入による染色体ベクター組込みの臨床報告はない。

2.6.6.7 生殖発生毒性試験

AZD1222 の胚・胎児発生への影響の評価について、GLP 適用の予備試験（試験 490838）及び本試験（試験 490843）が完了している。

2.6.6.7.1 雌 CD-1 マウスを用いた AZD1222 の筋肉内投与による生殖発生毒性試験（予備試験、試験 490838）

本試験の目的は、AZD1222 を雌 CD-1 マウスに筋肉内投与したときの生殖発生に及ぼす影響を検討することであった。本試験では、生殖腺機能、交尾能、妊娠率、着床、子宮内胎児及び出生児における形態学的発達、並びに出生児生存に対する影響を精査した。また、免疫原性反応についても、胚胎児発生期及び同腹期の母動物及び胎児、並びに授乳期間中の出生児で測定した。

AZD1222 を各母動物に 2 回筋肉内投与（総投与容量：0.07 mL/回）した。胚胎児発生期では、1 群当たり 16 匹の雌マウスに、1 日目（交配のための同居開始の 13 日前）及びその後の妊娠 6 日目（GD 6）に、AZD1222 を 2.59×10^{10} vp の用量で筋肉内投与した。同腹期では、1 群当たり 15 匹の雌マウスに、GD 6 及びその後の GD 15 に、AZD1222 を 2.59×10^{10} vp の用量で筋肉内投与した。溶媒対照群として、胚胎児発生期及び同腹期のそれぞれに、16 匹の雌マウスに AZD1222 投与群と同様のスケジュール及び容量で溶媒（A438 緩衝液）を筋肉内投与した。試験デザイン及び投与計画を表 8 に示す。なお、本試験で使用した雄 CD-1 マウスには投与を行わず、雌との交配にのみに使用した。

表 8 試験 490838－投与群

群	動物数（匹）	動物個体番号	投与	用量
				vp/0.07 mL（総投与量/回）
胚胎児発生期				
1	雌 16	1501～1516	溶媒対照	0
3	雌 16	3501～3516	AZD1222	2.59×10^{10}[a]
同腹期				
2	雌 16	2501～2516	溶媒対照	0
4	雌 15[b]	4501～4506 4508～4516	AZD1222	2.59×10^{10}

溶媒 = A438 緩衝液（35 mM 塩化ナトリウム、10 mM ヒスチジン、1 mM 塩化マグネシウム、0.1 mM EDTA、7.5% スクロース、0.1% ポリソルベート-80、0.5% エタノール、pH6.6）、vp = virus particle

[a] 群 3 の 1 日目の用量は 2.5×10^{10} vp であった。この用量は、本試験で使用されるワクチンバッチのウイルス粒子濃度が確認される前に設定されたものである。ただし、その差は約 3.5%少なかったに過ぎなかったため、被験物質の希釈調製は不要と判断し、その後の用量は 2.59×10^{10} vp とした。

[b] 雌マウス（個体番号 F4507）は、交配用の雄との同居時に受けた傷害のため、AZD1222 投与前の GD4 に切迫屠殺した。

毒性評価項目は、一般状態、体重、摂餌量、皮膚スコアリング、交尾能、受胎能、妊娠期間、着床状態、同腹児生存率、同腹児重量及び出生児体重、免疫原性評価（母動物、胎児及び出生児）、子宮重量及び母動物体重（胚胎児発生期のみ）、胎児重量、胎児の内臓及び骨格評価（胚胎児発生期のみ）、母動物及び出生児の肉眼所見である。

投与部位を含めて、母動物への影響、雌の生殖能、胎児あるいは出生児の生存に AZD1222 投与による影響は認められず、いずれの相においても、出生児及び母動物に対する肉眼所見は認められなかった。また、AZD1222 投与による胎児の内臓又は骨格の所見に異常は認められなかった。

溶媒対照群の動物から採取した血清サンプルのすべてにおける S-糖タンパク質に対する抗体価は、アッセイの定量限界（BLQ; 0.250 AU/mL）を下回り、血清反応陰性であった。胚胎児発生期において、AZD1222 を投与した母動物では、S-糖タンパク質に対する抗体反応が認められ、交配前にセロコンバージョンが起こったことが示唆された。S-糖タンパク質に対する抗体反応は GD 7 でも認められ、さらに GD 17.5 まで維持され、母動物と胎児の両方が血清反応陽性であった。一方、同腹期においては、GD 15 に S-糖タンパク質に対する抗体反応が認められた。この抗体反応は、授乳開始後 14 日（LD 14）のすべての母動物でも確認され、さらに、LD 14 の出生児はすべて血清反応陽性であった。LD 14 の出生児で確認された抗 S -糖タンパク質抗体反応の抗体価レベルの平均値は、GD 17.5 で収集された胎児サンプルで観察された抗体価レベルよりも高かった。このことは、抗 S-糖タンパク質抗体の乳汁移行を示唆している。免疫原性反応（抗 S 糖-タンパク質抗体反応の抗体価レベルの平均値）を表 9 に示す。

表 9 抗 S-糖タンパク質抗体反応の抗体価レベル

抗体価 (AU/mL)	胚胎児発生期の母動物			胎児[c]
	14 日目	GD 7[a]	GD 17.5	GD 17.5
平均値	354.883	788.115	184.065	91.011
標準偏差	142.455	531.065	96.524	53.926
抗体価 (AU/mL)	**同腹期の母動物**			**出生児[d]**
	GD 7	**GD 15[b]**	**LD 14**	**LD 14**
平均値	BLQ	55.751	155.144	266.213
標準偏差		47.835	116.859	196.906

BLQ = 定量限界（0.250 AU/mL）未満、GD = 妊娠後日数、LD = 授乳開始後日数
溶媒対照群より採取した血清は、すべて定量限界未満であった。

[a] サンプルは GD 6 のブースター投与後に採取

[b] サンプルは GD 15 のブースター投与の前に採取

[c] 同腹当たりの胎児血清を集めて得られた結果

[d] 同腹当たりの出生児血清を集めて得られた結果

結論として、CD-1 雌マウスへ AZD1222 を、胚胎児発生期の投与では 1 日目（交配のための同居開始の 13 日前）及び GD 6 に、同腹期の投与では、GD 6 及び GD 15 にそれぞれ、1 回あたり 2.59×10^{10} vp の用量で筋肉内投与した結果、どちらの相においても忍容性は良好であった。抗 S-糖タンパク質抗体反応は、AZD1222 の投与後に母動物で上昇し、これらは妊娠期間及び授乳期間を通じて維持された。胎児及び出生児の血清反応陽性が確認され、抗 S-糖タンパク質抗体の胎盤移行性及び乳汁移行性がそれぞれ認められた。投与部位を含めて、母動物への影響、雌の生殖、胎児あるいは出生児の生存に AZD1222 投与による影響は認められず、胚胎児発生期及び同腹期のいずれの相においても、出生児及び母動物に対する肉眼所見は認められなかった。また、AZD1222 投与による胎児の内臓又は骨格の所見に異常は認められなかった。

これらの結果は、授乳期に十分な抗 S-糖タンパク質抗体の出生児への移行が認められた本試験デザインを支持するものであり、ヒトとの関連性のある（外挿性のある）結果と考えられる。

2.6.6.7.2 雌 CD-1 マウスを用いた AZD1222 の筋肉内投与による主要生殖発生毒性試験（試験 490843）

本試験の目的は、AZD1222 を雌 CD-1 マウスに筋肉内投与したときの生殖発生に及ぼす影響を検討することであった。本試験では、生殖腺機能、交尾能、妊娠率、着床、子宮内胎児及び出生児における形態学的発達、並びに出生児生存に対する影響を精査した。F1 世代の身体的発育は出生後日齢 44 日（PND 44）まで評価した。

免疫原性反応についても、胚胎児発生期及び同腹期の母動物及び胎児、並びに授乳期間中の出生児で測定した。

AZD1222 を各母動物に 2 回筋肉内投与（総投与容量：0.07 mL/回）した。胚胎児発生期では、1 群当たり 25 匹の雌マウスに、1 日目（交配のための同居開始の 13 日前）及びその後の妊娠 6 日目（GD 6）に、AZD1222 を 3.71×10^{10} vp の用量で筋肉内投与した。同腹期では、1 群当たり 25 匹の雌マウスに、GD 6 及びその後の GD 15 に、AZD1222 を 3.71×10^{10} vp の用量で筋肉内投

与した。溶媒対照群として、胚胎児発生期及び同腹期のそれぞれに、25 匹の雌マウスに AZD1222 投与群と同様のスケジュール及び容量で溶媒を筋肉内投与した。なお、本試験で使用した雄 CD-1 マウスには投与を行わず、雌との交配にのみに使用した。

表 10　　試験 490843－投与群

群	動物数（匹）	動物個体番号		投与	用量
					vp/0.07 mL（総投与量/回）
胚胎児発生期					
1	雌 25	1501～1525		溶媒対照	0
3	雌 25	3501～3525		AZD1222	3.71×10^{10}
同腹期					
2	雌 25	2501～2525		溶媒対照	0
4	雌 25	4501～4525		AZD1222	3.71×10^{10}
出生児					
2	雄 64、雌 80	2201[a]	2701[a]	溶媒対照	投与されていない
4	雄 68、雌 86	4201[a]	4701[a]	AZD1222	投与されていない
F1 世代					
2	雄 83、雌 82	2101[a]	2601[a]	溶媒対照	投与されていない
4	雄 88、雌 92	4101[a]	4601[a]	AZD1222	投与されていない

溶媒 = 35 mM 塩化ナトリウム、10 mM ヒスチジン、1 mM 塩化マグネシウム、0.1 mM EDTA、7.5% スクロース、0.1% ポリソルベート-80、0.5% エタノール、（pH6.）、vp = virus particle

[a] PND 21 から出生児及び F1 世代の動物は、表中に記載した動物個体番号から昇順で個体番号を付与した。

毒性評価項目は、一般状態、体重、摂餌量、皮膚スコアリング、交尾能、受胎能、妊娠期間、着床状態、同腹児生存率、同腹児重量及び出生児体重、出生児の眼瞼開裂、選抜した出生児の性成熟、免疫原性評価（母動物、胎児及び出生児）、子宮重量及び母動物体重（胚胎児発生期のみ）、胎児重量、胎児の内臓及び骨格評価（胚胎児発生期のみ）、母動物及び出生児の肉眼所見である。

投与部位を含めて、母動物への影響、雌の生殖能、胎児あるいは出生児の生存、出生児の身体的発育に AZD1222 投与による影響は認められず、いずれの相においても、出生児、F1 世代動物及び母動物に対する肉眼所見は認められなかった。また、AZD1222 投与による胎児の外表、内臓又は骨格の所見に異常は認められなかった。

胚胎児発生期及び同腹期の溶媒対照群動物から採取した全血清サンプルは、同腹期の溶媒対照群の 1 サンプルを除き、S-糖タンパク質に対する抗体価アッセイの定量限界を下回り、血清反応陰性であった。授乳開始後 21 日（LD 21）の溶媒対照群の母動物から採取した 1 サンプルの S-糖タンパク質に対する抗体価は、5.926 AU/mL で血清反応陽性であったが、この抗体価は、AZD1222 を投与した母動物から採取したサンプルから得られた結果より低いものであった。この

母動物は GD 15 では血清反応陰性であり、この母動物由来の出生児の LD 21 での血清反応も陰性であった。

胚胎児発生期のすべての動物においては、AZD1222 の 1 回目の単回投与（1 日）をした後、交配前（14 日）に S-糖タンパクに対する抗体反応が確認された。GD 6 に AZD1222 を 2 回目の投与後、GD 7 及び GD 17.5 に収集されたサンプルでは、妊娠期間中を通じて、S-糖タンパク質に対する持続的な抗体反応がみられた。GD 17.5 に採取された胎児サンプルのすべてにおいて血清反応は陽性であり、母動物の抗 S-糖タンパク質抗体が胎児に移行したことが示された。

S-糖タンパク質に対する抗体反応は、GD 6 に AZD1222 を単回投与した後、GD 15 のすべての同腹期の動物で認められた。GD 15 に AZD1222 の 2 回目の投与後の LD 7 及び LD 21 に採取されたサンプルでは、GD 15 の投与する前に採取されたサンプルと比較して S-糖タンパク質に対する抗体反応の増加が認められた。S-糖タンパク質に対する抗体反応は、LD 21 の出生児から採取されたすべてのサンプルで観察され、抗 S-糖タンパク質抗体の乳汁移行を示唆している。

表 11　　抗 S-糖タンパク質抗体反応の抗体価レベル

抗体価 (AU/mL)	**胚胎児発生期の母動物**			**胎児 [c]**
	14 日目	**GD 7[a]**	**GD 17.5**	**GD 17.5**
平均値	344.42	752.00	247.54	78.90
標準偏差	277.89	463.46	288.48	46.55
抗体価 (AU/mL)	**同腹期の母動物**			**出生児 [d]**
	GD 15[b]	**LD 7**	**LD 21**	**LD 21**
平均値	52.29	262.72	419.32	120.34
標準偏差	30.39	370.59	299.38	71.32

GD = 妊娠後日数、LD = 授乳開始後日数
溶媒対照群より採取した血清は、1 サンプルの抗体価（5.926 AU/mL）を除き、すべて定量限界（0.250 AU/mL）未満であった。

[a] サンプルは GD 6 のブースター投与後に採取
[b] サンプルは GD 15 のブースター投与の前に採取
[c] 同腹当たりの胎児血清を集めて得られた結果
[d] 同腹当たりの出生児血清を集めて得られた結果

結論として、CD-1 雌マウスへ AZD1222（3.71×10^{10} vp /回）を、1 日目（交配のためのペアリングの 13 日前）及び GD 6（胚胎児発生期）、または GD 6 及び GD 15（同腹期）に筋肉内投与したときの忍容性は良好であった。抗 S-糖タンパク質抗体反応は、AZD1222 投与後に母動物で上昇し、妊娠期間及び授乳期間を通じて維持された。胎児及び出生児に血清陽性反応が確認され、それぞれ胎盤及び乳汁中への抗 S-糖タンパク質抗体の移行性が認められた。

投与部位を含めて、母動物への影響、雌の生殖、胎児あるいは出生児の生存、出生児の身体的発育に AZD1222 投与による影響は認められず、胚胎児発生期及び同腹期のいずれの相においても、出生児、F1 世代及び母動物に対する肉眼所見は認められなかった。また、AZD1222 投与による胎児の外表、内臓又は骨格の所見に異常は認められなかった。

2.6.6.8 局所刺激性試験

AZD1222 の局所刺激性評価に特化した試験は実施しなかったが、AZD1222 の局所刺激性は、マウスを用いた 6 週間反復間欠投与毒性試験（試験 513351、2.6.6.3.1）で評価した。いずれの投与時においても AZD1222 投与後に、投与部位に紅斑や浮腫は認められなかった。病理組織学的検査において、溶媒対照群及び AZD1222 投与群の双方の動物（両性）の投与部位に軽微な皮下浮腫が観察され、筋肉内投与手技に関連していると考えられた。軽微な単核細胞及び/又は混合細胞性浸潤による炎症反応が、雄及び雌の投与部位の皮下組織及びその直下にある骨格筋で認められた。この所見は、AZD1222 投与動物で発生率が高かった。一部の動物で、投与部位の骨格筋直下の筋膜及び結合組織への炎症細胞の拡がりが認められた。これにより、坐骨神経の神経上膜/神経周膜の周囲に炎症細胞が認められた。この後肢における投与部位からの局所的な炎症細胞の拡がりによる坐骨神経周囲の炎症所見は、一般的にワクチンの筋肉内投与後に生じるよく認識されている影響である（Sellers et al 2020）。投与部位及び坐骨神経の所見は回復期間終了時には認められず、AZD1222 投与に関連した炎症は完全に回復性のあるものであることが示唆された。さらに、局所刺激性については、関連する ChAdOx1 MERS ワクチンのマウスを用いた GLP 適用の反復投与毒性試験（試験 QS18DL）の一環として評価した。ChAdOx1 MERS ワクチンの投与に関連した変化が、マウスの筋肉内投与部位の組織、右腰リンパ節（流入領域リンパ節）、及び脾臓に認められた。筋肉内投与部位の組織に認められた炎症細胞浸潤（リンパ球／単核球炎症細胞の浸潤）はワクチンの筋肉内投与に起因し、右腰リンパ節の胚中心形成の増加は、この領域のリンパ排出による免疫刺激に起因するものであり、毒性変化ではないと考えられる。

2.6.6.9 その他の毒性試験

その他の毒性試験は実施していない。

2.6.6.10 考察及び結論

CD-1 マウスを用いた反復投与毒性試験（43 日間にわたって 3 週間に 1 回筋肉内投与）では、AZD1222 の忍容性は良好で、雄では一過性の体温上昇、雌雄共に単球減少（予想される AZD1222 の薬理作用と一致）、急性期反応と一致するグロブリンの増加とアルブミン及びアルブミン/グロブリン比の減少がみられた。AZD1222 を投与した動物のすべてにおいて、S-糖タンパク質に対する抗体価が上昇し、抗体価上昇はすべての動物の投与期間中及び回復期間を通して維持された。AZD1222 投与により、脾臓重量の増加がみられたが、肉眼的及び病理組織学的所見との相関は認められなかった。AZD1222 投与動物の投与部位の皮下組織と骨格筋、及び隣接する坐骨神経で、有害でない単核細胞及び/又は混合細胞性浸潤による炎症反応が認められた。この所見は、ワクチンの筋肉内投与後に予想される所見と一致したものであった。

マウスを用いた予備的及び主要な生殖発生毒性試験（共に GLP 適用）では、投与部位を含めて、母動物への影響、雌の生殖、胎児あるいは出生児の生存に AZD1222 投与による影響は認められず、出生児、F1 世代及び母動物に対する肉眼所見は認められなかった。また、AZD1222 投与による胎児の外表、内臓又は骨格の異常所見は認められなかった。

AZD1222 に使用されている ChAdOx1 プラットフォーム技術を用いたワクチンの毒性試験である、完全長 S タンパク質を発現する ChAdOx1 MERS-CoV ワクチンの投与試験では、右腰リンパ節、脾臓、及び筋肉内注射部位に投与に関連した影響が認められた。この毒性試験における所見の範囲及び重症度は、ChAdOx1 MERS のような抗原性物質の投与後に予想される変化と概ね一致しており、有害な所見ではないと考えられた。同様に、マウスに非増殖型 ChAdOx1 NP+M1 及び ChAd63 MSP-1 ワクチンを投与した反復投与毒性試験においても有害な所見は認められなかっ

た。マウスに ChAdOx1 MERS、ChAdOx1 NP+M1 及び ChAd63 MSP-1 ワクチンを投与したときの忍容性は良好であり、有害な影響は認められなかった。

結論として、AZD1222 及び同様の ChAd ベクターワクチンの忍容性は良好で、マウスにおいて有害な影響は認められなかった。

2.6.6.11 参考文献

ICMRA 2020
International Coalition of Medicines Regulatory Authorities. Global regulatory workshop on COVID-19 vaccine development. Summary Report. http://www.icmra.info/drupal/sites/default/files/2020-03/First%20regulatory%20COVID-19%20workshop%20-%20meeting%20report_March%202020.pdf

Sellers et al 2020
Sellers RS, Nelson K, Bennet B, Wolf J, Tripathi N, Chamanza R et al. Scientific and Regulatory Policy Committee Points to Consider*: Approaches to the Conduct and Interpretation of Vaccine Safety Studies for Clinical and Anatomic Pathologists. Toxicol Pathol. 2020;48(2):257-76.

WHO 2005
(World Health Organization) WHO Technical Report Series, No 927. Annex 1. WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines

第 2 部　CTD の概要

一般名：AZD1222

版番号：[redacted]

2.6.7　毒性試験概要表
AZD1222

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

標題ページ 1
目次 2
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 5
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 6
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 7
2.6.7.5 単回投与毒性試験 8
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 9
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 17
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 21
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 22
2.6.7.10 がん原性試験 23
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 24
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 25
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 26
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 34
2.6.7.15 新生児を用いた試験 35
2.6.7.16 局所刺激性試験 36
2.6.7.17 その他の毒性試験 37
2.6.7.18 参考文献 38

表目次

表 1 AZD1222 毒性試験一覧表 3
表 2 毒性試験で用いた被験物質 7
表 3 ChAdOx1 MERS のマウス反復投与毒性試験 9
表 4 ChAd OX1 NP+M1 及び MVA NP+M1 のマウス反復投与毒性試験 12
表 5 AdCh63 MSP-1 及び MVA MSP-1 あるいは AdCh63 ME-TRAP/MVA ME-TRAP のマウス反復投与毒性試験 14
表 6 AZD1222 のマウス 6 週間反復間欠投与毒性試験 17
表 7 AZD1222 の胚・胎児発生に関する試験（予備試験） 26
表 8 AZD1222 の胚・胎児発生に関する試験 30

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

表 1 AZD1222 毒性試験一覧表

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses	GLP	Testing facility	Study number	Location in CTD
Single-dose toxicity	Not conducted							
Repeat-dose toxicity	Balb/C mice	IM	Day 1 and 15	ChAdOx1 MERS 1×10^{10} vp	Yes	[redacted], [a] UK	QS18DL	4.2.3.2.2
	Balb/C mice	IM	Day 1 and 15	Day 1, IM ChAdOx1 NP+M1 1×10^{10} vp and Day 15, IM MVA NP+M1 1.5×10^{7} pfu	Yes	[redacted], [a] UK	XMM0003	4.2.3.2.3
	Balb/C mice	IM	Day 1 and 15	Day 1, IM ChAd63ME-TRAP 1×10^{10} vp Day 15, IM ChAd63ME-TRAP/ MVA ME TRAP 0.78×10^{10} vp / 6.85×10^{7} pfu	Yes	[redacted], [a] UK	UNO0013	4.2.3.2.4
	CD-1 mice	IM	Days 1, 22 and 43,	3.7×10^{10} vp AZD1222	Yes	[redacted], UK	513351	4.2.3.2.1
Genotoxicity	Not conducted							
Carcinogenicity	Not conducted							

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses	GLP	Testing facility	Study number	Location in CTD
Reproductive & development toxicity								
Preliminary Embryofetal Development	CD-1 mice	IM	Day 1 (13 days prior to pairing for mating) and GD 6 to EFD phase animals and on GD 6 and GD 15 to littering phase animals	2.59 x 10^{10} vp AZD1222	Yes	[redacted], UK	490838	4.2.3.5.2.1
Embryofetal Development	CD-1 mice	IM	Day 1 (13 days prior to pairing for mating) and GD 6 to EFD phase animals and on GD 6 and GD 15 to littering phase animals	3.71 x 10^{10} vp AZD1222	Yes	[redacted], UK	490843	4.2.3.5.2.2
Studies in juvenile animals	Not conducted							
Local tolerance	Not conducted							
Other toxicity studies	Not conducted							

EFD = embryo-fetal development; GD = gestation day; IM = intramuscular

a [redacted]

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

No Toxicokinetic studies have been performed with AZD1222. Consistent with WHO guidelines on the nonclinical evaluation of vaccines (WHO 2005), Pharmacokinetic studies (eg, for determining serum or tissue concentrations of vaccine components) are normally not needed.

2.6.7.3　　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

No Toxicokinetic studies have been performed with AZD1222. Consistent with WHO guidelines on the nonclinical evaluation of vaccines (WHO 2005), Pharmacokinetic studies (eg, for determining serum or tissue concentrations of vaccine components) are normally not needed.

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

表 2 毒性試験で用いた被験物質

Batch number	Virus Particle Concentration (vp/mL)	Sterility	Mycoplasma Test	Expiration	Study number	Type of study
MS00684-92	5.3 x 10^{11}	Pass	Negative	[redacted]20[redacted]	513351	6-Week Repeat-dose Mouse
3705	3.7 x 10^{11}	Pass	Negative	[redacted]20[redacted]	490838	Preliminary EFD Mouse
MS00684-92	5.3 x 10^{11}	Pass	Negative	[redacted]20[redacted]	490843	Main EFD Mouse

2.6.7.5 単回投与毒性試験

No single dose toxicity studies have been performed with AZD1222. Consistent with WHO guidelines on the nonclinical evaluation of vaccines (WHO 2005), the number of doses administered to test animals should be equal or more than the number of doses proposed in humans.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

表 3 ChAdOx1 MERS のマウス反復投与毒性試験

2.6.7.6A ChAdOx1 Chik Vaccine or ChAdOx1 MERS: Toxicity Study by Intramuscular Administration to Mice

Species: Balb/C mice	**Duration of Dosing:** Day 1 and 15	**Study Number:** QS18DL **Location in CTD:** 4.2.3.2.2
Initial Age: 54 to 61 days	**Duration of Postdose:** 13 days	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Intramuscular injection, 35µL right hindlimb	
No-Observed-Adverse-Effect-Level: 1×10^{10} vp	**Vehicle/Formulation:** Phosphate buffered saline, solution	
Parameters Evaluated: Clinical condition, body weight, food consumption, hematology (peripheral blood), blood chemistry, organ weight, macropathology and histopathology		
Conclusion: Administration of ChAdOx1 MERS was associated with treatment related changes in the right lumbar lymph node, spleen and intramuscular injection site. The spectrum and severity of the changes were consistent with the administration of an antigenic substance such as ChAdOx1 MERS, and were considered to be non-adverse. Treatment with the vaccine ChAdOx1 MERS was well tolerated and was not associated with any adverse effects.		

Dose	**Control**		**ChAdOx1 MERS**	
	0		**1×10^{10} vp**	
Number of Animals	**6:Male**	**6:Female**	**10:Male**	**10:Female**
Noteworthy Findings:				
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Body Weight Gain (%; g) [a]				
Day 1 - 28	3.5	2.4	2.8*	2.1
Blood Chemistry [b]				
Albumin (g/L)	30	31	29	29*
Phosphorous (mmol/L)	2.50	2.31	2.54	2.87*
Triglycerides (mmol/L)	2.39	1.39	1.35**	0.89**
Glucose (mmol/L)	12.07	12.11	15.74**	14.59**
Organ Weights [c]				
Liver – Absolute (g)	1.26	0.83	1.09	0.78
Adjusted (g)	1.22	0.85	1.13**	0.77*

Dose	**Control**		**ChAdOx1 MERS**	
	0		**1×10^{10} vp**	
Number of Animals	**6:Male**	**6:Female**	**10:Male**	**10:Female**
Spleen– Absolute (g)	0.082	0.078	0.080	0.088
Adjusted (g)	0.080	0.080	0.082	0.087
Gross Pathology				
Number Examined	6	6	10	10
Lymph Node - right lumbar				
Enlarged	0	0	1	7
Histopathology				
Number Examined	6	6	6	8
Lymph Node - right lumbar				
Germinal centre development, increased				
Minimal	0	0	0	1
Slight	0	0	5	5
Moderate	0	0	1	2
Increased cellularity, paracortex				
Minimal	0	0	4	2
Slight	0	0	2	5
Spleen				
Number Examined	6	6	5	5
Germinal centre development, increased				
Minimal	0	0	1	3
Injection site				
Number Examined	6	6	5	5
Infiltrate, inflammatory cells, muscle				

Dose	**Control**		**ChAdOx1 MERS**	
	0		**1×10^{10} vp**	
Number of Animals	**6:Male**	**6:Female**	**10:Male**	**10:Female**
Minimal	0	0	2	2
Infiltrate, inflammatory cells, interstitial tissue				
Minimal	0	0	1	2

vp = viral particles. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

[a] For controls, group means are shown, for treated groups, percent differences from controls are shown.
[b] Group mean values on Day 28.
[c] Group mean absolute and adjusted values (g) for animals killed after 28 days of treatment.

表 4 ChAd OX1 NP+M1 及び MVA NP+M1 のマウス反復投与毒性試験

2.6.7.6B ChAd OX1 NP+M1 and MVA NP+M1: Toxicity Study by Intramuscular Administration to Mice

Species: Balb/C mice	**Duration of Dosing:** Day 1 and 15	**Study Number:** XMM0003 **Location in CTD:** 4.2.3.2.3
Initial Age: 54 to 61 days	**Duration of Postdose:** 13 days	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Intramuscular injection, 80 µL (Day 1) and 120 µL (Day 15) right hindlimb	
No-Observed-Adverse-Effect-Level: 1×10^{10} vp	**Vehicle/Formulation:** Phosphate buffered saline, solution	
Parameters Evaluated: Clinical condition, body weight, food consumption, hematology (peripheral blood), blood chemistry, organ weight, macropathology and histopathology		
Conclusion: Treatment with the vaccine ChAdOx1 NP+M1 followed by the vaccine MVA NP+M1 was well tolerated and was not associated with any adverse effects.		

Dose	**Control**		**ChAdOx1 NP + M1**	
	0		**1×10^{10} vp**	
Number of Animals	**5:Male**	**5:Female**	**10:Male**	**10:Female**
Noteworthy Findings:				
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Haematology [a]				
White Blood cell count (10^9/L)	3.69	2.79	4.47	5.02**
Serum Chemistry [a]				
Total Protein (g/L)	48	48	50	50
Gross Pathology				
Number Examined	5	5	10	10
Lymph Node – right popliteal				
Enlarged	0	0	0	9
Lymph Node - right lumbar				
Enlarged	0	0	0	10

Dose	**Control**		**ChAdOx1 NP + M1**	
	0		**1 × 10^{10} vp**	
Number of Animals	**5:Male**	**5:Female**	**10:Male**	**10:Female**
Histopathology				
Number Examined	5	5	5	10
Lymph Node – right popliteal				
Germinal centre development, increased				
Minimal	0	3	0	0
Moderate	0	0	0	10
Lymph Node - right lumbar				
Germinal centre development, increased				
Moderate	0	0	0	10
Lymph Node - mesenteric				
Germinal centre development, increased				
Slight	0	0	0	1
Cellularity, generalised				
Slight	0	0	0	1
Spleen				
Number Examined	5	5	5	5
Extramedullary haemopoiesis				
Slight	0	0	0	1
Injection site				
Number Examined	5	5	5	5
Myofibre degeneration and inflammation				
Minimal	3	2	1	1
Slight	3	5	1	4

vp = viral particles. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. [a] Group mean values on Day 28 of treatment.

表 5 AdCh63 MSP-1 及び MVA MSP-1 あるいは AdCh63 ME-TRAP/MVA ME-TRAP のマウス反復投与毒性試験

2.6.7.6C Toxicity Study by Intra-Muscular Administration of either AdCh63 MSP-1 and MVA MSP-1 or a Combination of AdCh63 ME-TRAP and MVA ME-TRAP to Mice

Species: Balb/C mice	**Duration of Dosing:** Day 1 and 15	**Study Number:** UNO0013 **Location in CTD:** 4.2.3.2.4
Initial Age: 54 to 61 days	**Duration of Postdose:** 13 days	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Intramuscular injection, right and left hindlimbs	
No-Observed-Adverse-Effect-Level: 1.11×10^{10} vp; 0.78×10^{10} vp	**Vehicle/Formulation:** Phosphate buffered saline, solution	

Parameters Evaluated: Clinical condition, body weight, food consumption, hematology (peripheral blood), blood chemistry, organ weight, macropathology and histopathology

Conclusion: Treatment with either MSP-1 vaccines or ME-TRAP vaccines was not associated with any systemic toxicological changes. The findings of increased cellularity of the draining lymph nodes, increased germinal centre development of the spleen, high plasma globulin concentrations and inflammatory changes at the dose sites are considered to be consistent with a predicted response to vaccine administration.

Dose	**Control**		**AdCh63 MSP-1 (Day 1) MVA MSP-1 (Day 15)**		**AdCh63 ME-TRAP/MVA ME-TRAP**	
	0		**1.11×10^{10} vp 10.37×10^{7} pfu**		**0.78×10^{10} vp /6.85×10^{7}pfu**	
Number of Animals	**5:Male**	**5:Female**	**10:Male**	**10:Female**	**10:Male**	**10:Female**
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0
Noteworthy Findings:						
Blood Chemistry [a]						
Total Protein (g/L)	50	50	53	51	53	54**
Globulin (g/L)						
Alfa 2	4	3	5**	3	4	3
Beta	9	9	12**	10	9	10
Gamma	1	1	2*	3**	3**	4**
Albumin / Globulin ratio	1.68	2.12	1.29**	1.66**	1.50**	1.70**

Dose	**Control**		**AdCh63 MSP-1 (Day 1) MVA MSP-1 (Day 15)**		**AdCh63 ME-TRAP/MVA ME-TRAP**	
	0		**1.11 x 10^{10} vp 10.37 x 10^{7} pfu**		**0.78 x 10^{10} vp /6.85 x 10^{7}pfu**	
Number of Animals	**5:Male**	**5:Female**	**10:Male**	**10:Female**	**10:Male**	**10:Female**
Organ weights						
Spleen– Absolute (g)	0.081	0.089	0.108**	0.103	0.090**	0.105
Gross Pathology						
Number Examined	5	5	10	10	10	10
Lymph Node – right popliteal						
Enlarged - left	0	0	7	6	6	6
Enlarged - right	0	5	9	8	8	7
Lymph Node - lumbar						
Enlarged	0	0	4	8	0	2
Injection Site						
Pale areas - right	0	0	8	9	0	7
Pale areas - left	0	0	9	7	4	10
Histopathology						
Lymph Node – popliteal						
Number Examined	5	5	10	10	7	9
Follicles – increased cellularity						
Minimal	0	1	0	2	1	2
Slight	0	0	6	0	4	4
Moderate	0	0	4	8	2	2
Lymph Node – lumbar						
Number Examined	0	0	4	8	0	2
Follicles – increased cellularity						
Minimal	0	0	0	0	0	1
Slight	0	0	3	5	5	1

Dose	**Control**		**AdCh63 MSP-1 (Day 1) MVA MSP-1 (Day 15)**		**AdCh63 ME-TRAP/MVA ME-TRAP**	
	0		**1.11 x 10^{10} vp 10.37 x 10^{7} pfu**		**0.78 x 10^{10} vp /6.85 x 10^{7}pfu**	
Number of Animals	**5:Male**	**5:Female**	**10:Male**	**10:Female**	**10:Male**	**10:Female**
Moderate	0	0	1	3	3	0
Spleen						
Number Examined	5	5	6	5	5	5
Germinal centre development, increased						
Minimal	0	0	4	1	3	5
Slight	0	0	0	0	1	0
Injection site						
Number Examined	5	5	9	10	7	10
Myofibre degeneration						
Minimal	0	0	2	3	1	5
Slight	0	0	1	2	4	2
Moderate	0	0	1	1	0	2
Marked	0	0	3	1	0	0
Myofibre inflammation						
Minimal	0	0	2	4	1	1
Slight	0	0	2	2	4	7
Moderate	0	0	2	2	2	2
Marked	0	0	3	2	0	0
Myofibre mineralisation						
Minimal	0	0	0	1	1	1
Slight	0	0	0	0	1	1
Dermal inflammation						
Marked	0	2	5	2	4	4
Slight	0	0	1	6	1	3

vp = viral particles. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

[a] Group mean values on Day 28.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

表 6 AZD1222 のマウス 6 週間反復間欠投与毒性試験

2.6.7.7 AZD1222 (ChAdOx1-nCovd-19): A 6 Week Intermittent Dosing Intramuscular Vaccine Toxicity Study in the Mouse with a 4 Week Recovery

Species / Strain: CD1 Mouse	**Duration of dosing:** 6 Weeks	**Study number:** 513351 **Location in CTD:** 4.2.3.2.1
Age at start of dosing: 7-8 Weeks	**Duration of post-dose:** 4 Weeks	**GLP compliance:** Yes
Date of first dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of administration:** Intramuscular Injection	**Testing Facility:** [redacted], UK
Special features: Immunogenicity was also evaluated		**Vehicle / Formulation:** AZD1222 Vehicle (10 mM histidine, 7.5% [v/w] sucrose, 35 mM sodium chloride, 1 mM magnesium chloride, 0.1% [v/w] Polysorbate-80, 0.1 mM EDTA and 0.5% [v/w] ethanol, pH 6.6)
No observed adverse-effect level: Not applicable		

Conclusion:

Administration of AZD1222 to CD-1 mice (total viral particle dose of $3.7x10^{10}$) by intramuscular injection on 3 occasions (once every 3 weeks) over a 43 day period was well tolerated, with a transiently higher body temperature in males, decreases in monocytes in males and females (consistent with the expected pharmacology of AZD1222) and increase in globulin and decrease in albumin and albumin/globulin ratio, consistent with an acute phase response, observed.

In all animals dosed with AZD1222, antibodies against the S-glycoprotein were raised and maintained throughout the dosing and recovery periods in all animals.

In AZD1222 animals, higher spleen weights were observed but with no correlating macroscopic or microscopic changes. Non adverse, fully reversible, mixed and/or mononuclear cell inflammation was observed in the subcutaneous tissues and skeletal muscle of the administration sites and adjacent sciatic nerve of animals dosed with AZD1222 which were consistent with the anticipated findings after intra-muscular injection of vaccines.

Total Viral Particle dose (VP)/dose	**0 (Vehicle)**		**3.7x10^{10}**	
Number of Animals				
Main **Recovery** **Immunogenicity**	**M: 20** **M: 20** **M: 0**	**F: 20** **F: 20** **F: 0**	**M: 20** **M: 20** **M: 5**	**F: 20** **F: 20** **F: 5**
Noteworthy Findings				
Died or Sacrificed Moribund	0	1[a]	0	0
Body Temperature (%) [b]		(°C)		
Day 22 (4 hours post dose)	36.98	-	3.43**	-
Haematology				
Monocytes (10^9/L)				
Day 45	0.093	0.106	0.43x	0.39x**
Serum Chemistry				
Globulin (g/L)				
Day 45	17.90	15.26	1.19x***	1.22x**
Day 74	17.46	12.95	1.03x	1.19x*
Albumin (g/L)				
Day 45	31.29	34.85	0.94x*	0.90x**
Albumin/Globulin Ratio				
Day 45	1.77	2.32	0.79x***	0.72***
Day 74	1.79	2.75	0.99x	0.83x*
Immunogenicity				
Antibody Response (AU/mL)[c]				
Day 22			372.405	816.330
Day 43			993.835	1636.206
Day 74			1240.280	2477.321
Organ Weights (%)[b,d]		(g)		
Spleen	0.0910	0.1227	34***	42***

Total Viral Particle dose (VP)/dose	**0 (Vehicle)**		**$3.7x10^{10}$**	
Number of Animals				
Main **Recovery** **Immunogenicity**	**M: 20** **M: 20** **M: 0**	**F: 20** **F: 20** **F: 0**	**M: 20** **M: 20** **M: 5**	**F: 20** **F: 20** **F: 5**
Histopathology				
Number examined	10	10	10	10
Administration Site 1				
Inflammation, mononuclear cell; subcutaneous tissue; myofiber	2	0	6	3
Minimal	2	0	6	3
Inflammation, mixed cell; subcutaneous tissue; myofiber	0	1	4	7
Minimal	0	1	4	7
Administration Site 2				
Inflammation, mononuclear cell; subcutaneous tissue; myofiber	4	0	6	1
Minimal	4	0	6	1
Inflammation, mixed cell; subcutaneous tissue; myofiber	0	1	4	8
Minimal	0	1	4	8
Nerve, Sciatic				
Inflammation, mononuclear cell; perineurial	0	0	5	1
Minimal	0	0	5	1
Inflammation, mixed cell; perineurial	0	2	4	8
Minimal	0	2	4	8

M = male, F = female.
- No noteworthy findings

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001. Body temperature, haematology and serum chemistry data analysed using Kruskal-Wallis &Dunn. Organ weight data analysed using Anova & Dunnett.

[a] Control animal F1618 was found dead on Day 39. There were no clinical observations or erythema/oedema noted at the injection sites in this animal throughout the study and there were no changes in body weight. Many tissues showed post-mortem changes but there were no microscopic findings that would account for the death of this animal. As this was a control animal this was considered to be unrelated to the administration of AZD1222.

[b] For controls, group means are shown, for the treated group, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[c] All samples collected from animals during pretreatment phase prior to immunisation were below the limit of quantification (BLQ) for the assay (BLQ; 0.250 AU/mL) and were considered seronegative.

[d] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Displayed figures are for the absolute organ weight effects.

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

No Genotoxicity studies have been performed with AZD1222. Consistent with WHO guidelines on the nonclinical evaluation of vaccines (WHO 2005), genotoxicity studies are normally not required for the final vaccine formulation.

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

No Genotoxicity studies have been performed with AZD1222. Consistent with WHO guidelines on the nonclinical evaluation of vaccines (WHO 2005), genotoxicity studies are normally not required for the final vaccine formulation.

2.6.7.10 がん原性試験

No Carcinogenicity studies have not been performed with AZD1222. Consistent with WHO guidelines on the nonclinical evaluation of vaccines (WHO 2005), Carcinogenicity studies are not required for vaccine antigens. AZD1222 is a replication deficient, non-integrating adenovirus vector so there is no risk of carcinogenicity. To date there have been no clinical reports of chromosomal vector integration following adenovirus vector-mediated gene transfer.

2.6.7.11　　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

No nonpivotal studies with AZD1222 were not conducted.

2.6.7.12　　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Studies with AZD1222 were not conducted.

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

表 7 AZD1222 の胚・胎児発生に関する試験（予備試験）

2.6.7.13A AZD1222 (ChAdOx1-nCovd-19): A Preliminary Intramuscular Injection Vaccine Development and Reproductive Study in Female CD-1 Mice

Design similar to ICH 4.1.3? No	**Duration of dosing:** EFD phase – Study Day 1 and GD 6 Littering phase - GD 6 and GD 15	**Study number:** 490838
Species/strain: Mouse/ CD-1 (Crl:CD-1 (ICR))	**Day of mating:** Females were paired with undosed stud males on Study Day 14	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2.1
Initial age: approximately 11 weeks old (on Study Day 1)	**Day of C-section:** EFD phase – GD 17.5	**Testing facility:** [redacted], UK
Date of first dose: EFD phase - [redacted] 20[redacted] Littering phase - [redacted] 20[redacted]	**Method of administration:** Intramuscular injection	**GLP compliance:** Yes
Special features: The test item was administered on 2 occasions only to each dam. The EFD phase evaluated exposure pre-mating and during embryofetal development, and the Littering phase evaluated exposure during early gestation, through littering and up to LD 14.	**Vehicle/formulation:** A438 Buffer (10 mM histidine, 7.5% sucrose, 35 mM sodium chloride, 1 mM magnesium chloride, 0.1% Polysorbate-80, 0.1 mM EDTA and 0.5% ethanol, pH 6.6)	
No Observed Adverse Effect Level:		
F_0 Females:	NA	
F_1 Litters:	NA	

Conclusion: Intramuscular administration of AZD1222 to groups of CD-1 female mice on Day 1 (13 days prior to pairing for mating) and again on Gestation Day 6 at 2.59x10e10 per occasion (embryofetal developmental phase), or on GD 6 and GD 15 at 2.59x10e10 per occasion (littering phase) was well tolerated. Anti-S glycoprotein antibody responses were raised in dams following administration of AZD1222 and these were maintained through the gestational and lactation periods. Seropositivity of fetuses and pups was confirmed and was indicative of placental and lactational anti-S glycoprotein antibody transfer, respectively. There were no test item-related effects seen for dams in-life including at the injection site, for female reproduction, fetal or pup survival and no abnormal gross pathology findings in pups or in dams in either phase. There were no test item-related fetal visceral or skeletal findings.

Group, Dose mL/occasion	**1, 0.07 mL Control (EFD phase)**	**3, 0.07 mL AZD1222 (EFD phase)**	**2, 0.07 mL Control (Littering phase)**	**4, 0.07 mL AZD1222 (Littering phase)**
Immunogenicity Response:				
Antibody Concentration (AU/ml) (± SD)				
Study Day 14	BLQ	354.883 (142.455)	NS	NS
GD 7	BLQ	788.115 (531.065)	BLQ	BLQ
GD 15	NS	NS	BLQ	55.751 (47.835)
GD 17.5 (dams)	BLQ	184.065 (96.524)	NS	NS
GD 17.5 (fetuses)	BLQ	91.011 (53.926)	NS	NS
LD 14 (dams)	NS	NS	BLQ	155.144 (116.859)
LD 14 (pups)	NS	NS	BLQ	266.213 (196.906)
Dams:	16	16	16	15 [a]
Number pregnant	15	16	15	15
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0 [a]
Number aborted or with total resorption of litter	0	0	0	0
Clinical observation	-	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-	-

Group, Dose mL/occasion	1, 0.07 mL Control (EFD phase)	3, 0.07 mL AZD1222 (EFD phase)	2, 0.07 mL Control (Littering phase)	4, 0.07 mL AZD1222 (Littering phase)
Pre-mating body weight gain (g) Study Day 1-11	0.52	0.38	1.00	0.71
Gestation body weight gain (g) GD 0-17	30.68	30.15	32.39	31.11
Lactation body weight gain (g) LD 1-14	NA	NA	9.81	9.87
Group, Dose mL/occasion	**1, 0.07 mL Control (EFD phase)**	**3, 0.07 mL AZD1222 (EFD phase)**	**2, 0.07 mL Control (Littering phase)**	**4, 0.07 mL AZD1222 (Littering phase)**
Pre-mating overall food consumption (g/animal/day) Study Day 1-14	4.6	4.7	4.8	4.8
Gestation overall food consumption (g/animal/day) GD 0-17	6.00	6.06	5.87	6.30
Lactation overall food consumption (g/animal/day) LD 1-14	NA	NA	20.7	20.5
Mean pre-coital interval	2.8	2.6	2.3	2.7
Number of females sperm positive or with plug intact	16	16	15	15
Mean number of corpora lutea	16.0	14.7	NA	NA
Mean number of implantations	15.5	14.6	16.4	15.5
Pre-implantation loss (%)	2.89	0.45	NA	NA
Litters:				
Number of litters evaluated	15	16	15	15
Number of live fetuses at Caesarian section	14.5	13.7	NA	NA
Number of live pups born on LD 0	NA	NA	15.1	14.8

Group, Dose mL/occasion	1, 0.07 mL Control (EFD phase)	3, 0.07 mL AZD1222 (EFD phase)	2, 0.07 mL Control (Littering phase)	4, 0.07 mL AZD1222 (Littering phase)
Mean number of resorptions	1.0	0.9	NA	NA
Number of dead fetuses	0.1	0.0	NA	NA
Post-implantation loss (%)	6.83	6.15	7.8	4.8
Mean fetal body weight (g)	1.093	1.154*	NA	NA
Group, Dose mL/occasion	**1, 0.07 mL Control (EFD phase)**	**3, 0.07 mL AZD1222 (EFD phase)**	**2, 0.07 mL Control (Littering phase)**	**4, 0.07 mL AZD1222 (Littering phase)**
Mean litter weight on LD 1 (g)	NA	NA	29.48	28.05
Mean pup weight on LD 14 (g) – males **- females**	NA NA	NA NA	7.58 7.24	7.78 7.62
Fetal sex ratio (% Males)	51.71	53.78	NA	NA
Pup sex ratio (% Males)	NA	NA	55.6	54.6
Fetal anomalies: external, visceral, skeletal	-	-	NA	NA
Litter and pup observations	NA	NA	-	-
Necropsy observations pups	NA	NA	-	-

[a] Group 4 Animal F4507 killed unscheduled on Gestation Day 4 was not included in the study report as Group 4 animals did not receive their first vaccine dose until GD 6 ie. Animal F4507 was euthanised before receiving any test item.

GD = Gestation Day LD = Lactation Day NS= no samples taken NA=not applicable - = No noteworthy findings
BLQ = Below Limit of Quantification (0.250 AU/mL)
Anova & Dunnett * = $p<0.05$.

表 8 AZD1222 の胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13B AZD1222 (ChAdOx1-nCovd-19): An Intramuscular Injection Vaccine Development and Reproductive Study in Female CD-1 Mice

Design similar to ICH 4.1.3? No	**Duration of dosing:** EFD phase – Study Day 1 and GD 6 Littering phase - GD 6 and GD 15	**Study number:** 490843
Species/strain: Mouse/ CD-1 (Crl:CD-1 (ICR))	**Day of mating:** Females were paired with undosed stud males on Study Day 14	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2.2
Initial age: approximately 10-11 weeks (on Study Day 1)	**Day of C-section:** EFD phase – GD 17.5	**Testing facility:** [redacted], UK
Date of first dose: EFD Phase: [redacted] 20[redacted] Littering phase: [redacted] 20[redacted]	**Method of administration:** Intramuscular injection	**GLP compliance:** Yes
Special features: The test item was administered on 2 occasions only to each dam. The EFD phase evaluated exposure pre-mating and during embryofetal development, and the Littering phase evaluated exposure during early gestation, through littering and up to PND 44.	**Vehicle/formulation:** AZD1222 vehicle (10 mM histidine, 7.5% sucrose, 35 mM sodium chloride, 1 mM magnesium chloride, 0.1% Polysorbate-80, 0.1 mM EDTA and 0.5% ethanol, pH 6.6) Test Item Batch Number: MS00684-92	
No Observed Adverse Effect Level:		
F_0 Females:	No adverse findings observed.	
F_1 Litters:	No adverse findings observed.	
Conclusion: Intramuscular administration of AZD1222 to groups of CD-1 female mice on Day 1 (13 days prior to pairing for mating) and again on Gestation Day 6 at 3.71x10e10 VP per occasion (embryofetal development phase), or on GD 6 and GD 15 at 3.71x10e10 VP per occasion (littering phase) was well tolerated. Anti-S glycoprotein antibody responses were raised in dams following administration of AZD1222 and these were maintained through the gestational and lactation periods. Seropositivity of fetuses and pups was confirmed and was indicative of placental and lactational anti-S glycoprotein antibody transfer, respectively. There were no test item-related effects seen for dams in-life including at the injection site, for female reproduction, fetal or pup survival, pup physical development and no abnormal gross pathology findings in pups prior to or post weaning or in dams in either phase. There were no test item-related fetal external, visceral or skeletal findings.		

Group, Dose/occasion	**1, Control (EFD phase)**	**3, 3.71x10e10 VP_ AZD1222 (EFD phase)**	**2, Control (Littering phase)**	**4, 3.71x10e10 VP_ AZD1222 (Littering phase)**
Immunogenicity Response:				
Antibody Concentration (AU/ml) (± SD)				
EFD Phase				
Study Day 14	BLQ	334.42 (± 277.89)	NS	NS
GD 7	BLQ	752.00 (± 463.46)	NS	NS
GD 17.5 (dams)	BLQ	247.54 (± 288.48)	NS	NS
GD 17.5 (fetuses)	BLQ	78.90 (± 46.55)	NS	NS
Littering Phase				
GD 15	NS	NS	BLQ	52.29 (± 30.39)
LD 7 (dams)	NS	NS	BLQ	262.72 (± 370.59)
LD 21 (dams)	NS	NS	BLQ	419.32 (± 299.38)
LD 21 (pups)	NS	NS	BLQ	120.34 (± 71.32)
Dams:				
Number pregnant	22	24	24	23
Number died or sacrificed moribund	0	0	3[a]	0
Number aborted or with total resorption of litter	0	0	0	0
Clinical observation	-	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-	-
Pre-mating body weight gain (g) Study Day 1-14	-0.36	0.36	1.21	0.89
Gestation body weight gain (g) GD 0-17	29.41	30.31	32.55	31.41
Lactation body weight gain (g) LD 1-21	NA	NA	1.44	2.02

Group, Dose/occasion	1, Control (EFD phase)	3, 3.71x10e10 VP_ AZD1222 (EFD phase)	2, Control (Littering phase)	4, 3.71x10e10 VP_ AZD1222 (Littering phase)
F1 generation weight gain (g) Day 1-20[b]				
males	NA	NA	18.56	18.61
females	NA	NA	11.60	11.97
Pre-mating overall food consumption (g/animal/day) Study Day 1-14	5.3	6.1	6.3	6.1
Gestation overall food consumption (g/animal/day) GD 0-17	6.60	6.76	6.97	6.94
Lactation overall food consumption (g/animal/day) LD 1-21	NA	NA	24.98	25.33
F1 generation overall food consumption (g/animal/day) Day 1-20[b]				
males	NA	NA	5.1	5.0
females	NA	NA	4.2	4.1
Mean pre-coital interval	2.1	2.2	2.7	3.0
Number of females sperm positive or with plug intact	24	23	25	25
Mean number of corpora lutea	15.9	16.3	NA	NA
Mean number of implantations	15.2	15.4	16.6	16.3
Pre-implantation loss (%)	4.12	5.00	NA	NA
Litters:				
Number of litters evaluated	21	24	24	23
Mean number of live fetuses/litter at Caesarian section	14.2	14.2	NA	NA
Mean number of live pups/litter born on LD 0	NA	NA	15.1	15.1
Mean number of resorptions	1.0	1.2	NA	NA

Group, Dose/occasion	1, Control (EFD phase)	3, 3.71x10e10 VP_ AZD1222 (EFD phase)	2, Control (Littering phase)	4, 3.71x10e10 VP_ AZD1222 (Littering phase)
Number of dead fetuses	0	0	NA	NA
Post-implantation loss (%)	6.79	7.45	8.8	7.4
Mean fetal body weight (g)	1.064	1.101	NA	NA
Mean litter weight on LD 1 (g)	NA	NA	27.6	28.3
Mean pup weight on LD 21 (g)				
males	NA	NA	14.1	13.5
females	NA	NA	13.1	12.7
Fetal sex ratio (% Males)	49.81	51.14	NA	NA
Pup sex ratio (% Males)	NA	NA	48.3	50.4
Fetal anomalies: external, visceral, skeletal	-	-	NA	NA
Litter and pup observations	NA	NA	-	-
Necropsy observations pups	NA	NA	-	-
F1 generation males sexual maturation				
Age (days) at preputial separation	NA	NA	27.8	28.1
Weight (g) at preputial separation	NA	NA	25.2	24.8
F1 generation females sexual maturation				
Age (days) at vaginal opening	NA	NA	27.0	27.3
Weight (g) at vaginal opening	NA	NA	20.1	20.2

[a] Two Group 2 animals were euthanised due to total litter loss and another one for welfare reasons (dam was excessively grooming).
[b] The data for F1 generation animals are presented relative to a nominal start date after weaning on LD 21.
GD = Gestation Day LD = Lactation Day NS= no samples taken NA=not applicable - = No noteworthy findings
BLQ = Below Limit of Quantification (0.250 AU/mL)

2.6.7.14　　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

Studies with AZD1222 were not conducted.

2.6.7.15　　新生児を用いた試験

Studies in juvenile animals with AZD1222 were not conducted.

2.6.7.16 局所刺激性試験

A dedicated local tolerance study with AZD1222 was not conducted. However, local tolerance of AZD1222 was evaluated as part of the repeat dose toxicity study in mice (Study 513351).

2.6.7.17　　その他の毒性試験

No other toxicity studies with AZD1222 were conducted.

2.6.7.18 参考文献

WHO 2005
(World Health Organization) WHO Technical Report Series, No 927. Annex 1. WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines
MRA